

(12)

TIPO DE SOLICITUD

(11)

Nº REGISTRO



INVENCION



MODELO DE UTILIDAD



PRECAUCIONAL

(43) Fecha de Publicación 07.10.2002

(51) Int. Cl. A23J 1/00, 1/02, 1/04, 3/04

(21) Número de Solicitud 2158-01

(22) Fecha de Solicitud 06.09.2001

(30) Número de Prioridad (País, Nº y Fecha)

US 60/230.397 06.09.2000

(72) Nombre Inventor(es) (Incluir Dirección)

Herbert O. HULTIN 178 Granite Street, Rockport, Massachusetts 01866, USA.
 Stephen D. KELLEHER 178 Main Street, Wakefield, Massachusetts 01880, USA.
 Yuming FENG 33 Topsfield Road #5, Ipswich, Massachusetts 01938, USA.
 Hordur KRISTINSSON 1101 Broughton Drive, Beverly, Massachusetts 01916, USA.
 Mark P. RICHARDS, Willoughby Hills, Ohio, USA.
 Ingrid UNDLAND, De Geersgatan 18, s-41657 Goteborg, Suiza
 Shuming KE, Rockport, Massachusetts, USA

(71) Nombre Solicitante (Incluir Dirección y Teléfono)

UNIVERSITY OF MASSACHUSETTS
 One Beacon Street, 26 th Floor
 Boston, Massachusetts 02108
 United States of America

(74) Representante (Incluir Dirección y Teléfono)

ESTUDIO SILVA & CIA.

Juan Pablo Silva Dorado y/o Patricio Silva Del Campo y/o
 Jaime Silva Barros y/o Francisco J. Silva Dorado y/o Gonzalo
 Sánchez Serrano y/o Marcos Morales Andrade y/o Arturo
 Covarrubias Vargas y/o Rodrigo León Urrutia y/o Milena
 Alcayaga García y/o Nora Fanta Ivanovic.
 Hendaya 80 piso 4, Las Condes, Santiago, CHILE.
 ☎ (56 2) 438 70 00; ✉ (56 2) 372 04 44;

(54) Título de la Invención (Máximo 330 caracteres)

MÉTODO PARA AISLAR PROTEÍNA DESDE MASA MUSCULAR ANIMAL QUE COMPRENDE A) OBTENER UNA MASA MUSCULAR Y AGUA; B) AUMENTAR EL PH DE DICHA MEZCLA; C) EXTRAER AL MENOS UN 50% EN PESO DE LÍPIDOS DE MEMBRANA; D) PRECIPITAR LA PROTEÍNA SOLUBILIZADA Y REUNIR LA PROTEÍNA PRECIPITADA.

(57) Resumen (Máximo 1600 caracteres)

La presente invención provee un método para aislar proteína comestible desde una masa muscular animal, que comprende los siguientes pasos:

- Obtener una mezcla que comprende músculo animal y agua;
- Aumentar el pH de la mezcla a un nivel suficiente para solubilizar por lo menos una porción de la proteína animal insoluble en la mezcla;
- Extraer por lo menos alrededor de 50% en peso del total de los lípidos de membrana desde la mezcla;
- Precipitar la proteína solubilizada desde la mezcla de proteína muscular animal; y
- Reunir la proteína precipitada, para así aislar la proteína comestible de la masa muscular animal.

VISITENOS EN: www.dpi.cl

LLENAR POR COMPUTADOR O MÁQUINA DE ESCRIBIR

Esta invención se refiere a un proceso para aislar proteína comestible de la masa muscular animal al solubilizar la proteína en una solución alcalina y acuosa.

DESCRIPCIÓN DEL ARTE PREVIO

Surimi o pescado amoldado, prensado, ha sido producido en el Japón por aproximadamente unos mil años. Solo recientemente el surimi ha aparecido en los supermercados de América del Norte como imitación de patas de jaiba, de trozos de langosta, de camarones y de ostiones. El surimi en América del Norte es usualmente producido de un pescado blanco y magro, tal como el "pollock" o la pescada.

La masa muscular animal de bajo valor (ejemplo, de pescado graso de mar, de agua salada o de un residuo de hueso de aves) es usualmente indeseada como una fuente de alimentación para el consumo humano. Después de procesarse, la proteína aislada es usualmente caracterizada por sus texturas poco atractivas, sus colores oscuros y su fuerte sabor, a menudo como una consecuencia de la oxidación lípida de la membrana.

BREVE RESUMEN DE LA INVENCION

Esta invención se basa en el descubrimiento que si la proteína de la masa muscular animal se solubiliza en una solución alcalina, la proteína soluble resultante puede ser aislada con altos rendimientos y en una forma sustancialmente autóctona y no oxidada, la que se encuentra mejor adaptada para el consumo humano. Se ha descubierto que el tratamiento alcalino de la masa muscular animal minimizó los efectos de la oxidación de la desoxihemoglobina y de la hidrólisis de la miosina, una proteína muscular principal, por las proteasas lisosomales. Después de que la proteína de masa

proteína soluble entonces se precipita y se reúne o agrupa en una forma comestible.

Por consiguiente, la invención caracteriza un método para aislar la proteína comestible de la masa muscular animal (por ejemplo, del pescado, tal como el pescado de agua salada, o del ave) mediante la obtención de una mezcla que está compuesta de una masa muscular animal y de agua; aumentar el pp. de la mezcla a un nivel indicado para solubilizar por lo menos una porción de la proteína animal insoluble en la mezcla de la proteína de la masa muscular animal; extraer al menos aproximadamente un 50% en peso del total de los lípidos de la membrana de dicha mezcla; precipitar la proteína solubilizada de la mezcla de la proteína de la masa muscular; y reunir la proteína precipitada, así aislando la proteína comestible de la masa muscular animal. Esta proteína aislada puede ser utilizada para formar geles de proteína comestible que pueden usarse en los alimentos tales como, por ejemplo, los "hot dogs" y el surimi cocido. Para aún más limitar la magnitud de la oxidación, especialmente de los lípidos de la membrana, la mezcla puede incluir un quelante de hierro (es decir, un compuesto que liga y desactiva la oxidación en potencial de un átomo o un ion de hierro), tal como el ácido etilenodiaminotetraacético (EDTA), el ácido dietilenotriamino-pentaacídico (DTPA), la carnosina, la anserina, el ácido úrico, el ácido cítrico, el fosfato, el polifosfato, ferritina o transferrina.

El método puede incluir un paso de lavado opcional, en el cual la masa muscular cruda animal se enjuaga con agua antes de ser solubilizada; o un paso para extraer la materia insoluble tal como el hueso, la piel y el cartílago de la proteína solubilizada. Esto puede lograrse usando un paso adicional de centrifugación de baja velocidad antes de precipitar la proteína. Como se utiliza en el presente escrito, "de baja velocidad" significa alrededor de 4000 x g o inferiores (ejemplo, 2000, 2500, 3000,

60 o más minutos) para lograr el resultado deseado o esperado, tal como la extracción de las membranas lípidas o la extracción del material insoluble de la mezcla.

La masa muscular animal puede en general constituir un 50% o menos en peso de la mezcla (por ejemplo, 40, 30, 20, 15, 10 ó 5% o inferior). Cuando la extracción de los lípidos de membrana de la proteína soluble es lo deseado, el porcentaje de la masa muscular animal en la mezcla debe ser menor a, por ejemplo, 15, 10, o un 8% o inferior en peso de la mezcla, para así rendir la viscosidad de la solución lo suficientemente baja para la separación de los lípidos de membrana de la porción acuosa de la mezcla. Cuando la viscosidad de la proteína solubilizada se reduce, por lo menos un aproximado 50% (por ejemplo, por lo menos en un 60, 70, 80 ó 90%), en peso del total de los lípidos de membrana presente en la mezcla se pueden extraer.

Los lípidos de membrana pueden ser extraídos desde una mezcla utilizando un número de métodos. Por ejemplo, la centrifugación de la mezcla aproximadamente a unos 5000 x g o más (por ejemplo, 6.000, 7.000, 8.000, 9.000 o 10.000 x g o más) es lo suficiente como para hacer un pellet de los lípidos de membrana debajo de una capa acuosa que contenga la proteína solubilizada. Cuando sea necesario o deseable, los lípidos neutros (por ejemplo, los aceites) pueden ser extraídos de la superficie de la capa acuosa. Otros métodos para extraer los lípidos de membrana de la mezcla incluyen la filtración y la adición de un agregado, facilitando, así, la separación de uno o más componentes de la mezcla.

La solubilidad inicial de la proteína de la masa muscular animal puede lograrse al aumentar el pH de la mezcla a alrededor de 10,0 o más (ejemplo 10,5 o sobre este nivel). El pH puede aumentarse al agregar un polifosfato a la mezcla.

aumentado alrededor de 5,0 o más. El pH de la fase acuosa puede reducirse al agregarle un ácido, por ejemplo, ácido clorhídrico, a la fase acuosa. La concentración de sal puede ser ajustada opcionalmente para asistir la precipitación (por ejemplo, al agregarle una sal tal como el NaCl) y un crioprotector opcionalmente agregado a la proteína precipitada. La proteína precipitada puede ser reunida por centrifugación y/o con la asistencia de un agregado, tal como una poliamina (por ejemplo, espermina o espermidina), un polímero iónico o neutro, o cualquier otro agregado específico que también pueda ser de utilidad para agregarse a los lípidos de membrana.

En otro aspecto, la invención incluye un método para aislar la proteína comestible de una masa muscular animal (por ejemplo, de pescado o de ave) mediante la obtención de una mezcla que está compuesta de una masa muscular animal y de agua, aumentando el pH de la mezcla a un nivel suficiente como para solubilizar por lo menos una porción de la proteína animal insoluble en la mezcla de proteína de la masa muscular animal; precipitar la proteína solubilizada desde la mezcla proteínica de la masa muscular animal; y reunir o concentrar la proteína precipitada, aislando así la proteína comestible de la masa muscular animal. En este método, la temperatura de la mezcla se mantiene a 15° C o inferior (por ejemplo, 10° C, ó 5° C o inferior) en cada paso para así minimizar la desnaturalización de la proteína y la oxidación deletérea de los contaminantes tales como los lípidos de membrana. La proteína precipitada reunida provee un rendimiento de por lo menos un 70% (por ejemplo, por lo menos 80, 90, 95%) en peso de la proteína total de la masa muscular animal en la mezcla antes de aumentar el pH. Pasos y materiales adicionales y opcionales, como se describen en el presente escrito, pueden utilizarse en este método, donde sean aplicables.

alcalino para solubilizar por lo menos una porción de la proteína animal.

La invención cuenta con varias ventajas. Los métodos de la invención desactivan o reducen el potencial oxidativo de la hemoglobina, como asimismo minimizan la hidrólisis de la miosina, un componente principal de la masa muscular animal. Además, las características opcionales de la invención extraen esencialmente todos los lípidos de membrana, estabilizando así aún más la proteína comestible contra su oxidación. Así, la invención abarca una estrategia para desactivar los oxidantes y extraer los substratos no deseados por su oxidación, donde ambos asisten en rendir un producto de proteína comestible adecuada para los productos alimenticios comerciales.

Los métodos aquí descritos son de utilidad para procesar los tejidos musculares grasos como una composición para la cebada, los que usualmente son materias primas de bajo costo, tal como se encontraría en las especies de pescados grasos o de la carne de ave deshuesada mecánicamente. Además, los métodos son de utilidad para aislar la proteína comestible de la masa muscular animal magra, tal como la carne de pescado blanco (por ejemplo, el bacalao).

El proceso de esta invención también provee un rendimiento en aumento de la proteína de la masa muscular animal. Usualmente se puede obtener un valor mayor de aproximadamente un 70% en peso de la proteína del tejido muscular al utilizar los métodos de esta invención. En algunos casos, un rendimiento de proteína mayor al 90% en peso pueden lograrse. Además del valor comercial evidente al contar con mejores rendimientos, los rendimientos mejorados resultan en menor pérdida de proteína en el agua de desagüe durante el proceso industrial, por lo que se reduce la polución del medio ambiente.



Además, las partes de los animales que contengan otros tejidos grasos tales como la piel pueden ser utilizados, ya que los lípidos ofensivos, como asimismo las partes mismas, pueden extraerse. En el caso del procesamiento de pescado, los nuevos métodos eliminan la necesidad de filetear el pescado antes de aislar la proteína, reduciendo así el costo de su procesamiento. Similarmente, al extraer los lípidos, los métodos de la presente invención reducen la cantidad de las toxinas de la grasa soluble (por ejemplo, los bifenilos policlorinados o los PCBs) en el producto alimenticio.

A no ser que se defina de otra manera, todos los términos científicos y técnicos utilizados en el presente escrito cuentan con el mismo significado como comúnmente se entienden por una persona de conocimiento promedio en la técnica a la cual esta invención pertenece. Aunque a continuación se describen los métodos y los materiales adecuados para la práctica de pruebas, otros métodos similares o equivalentes a aquellos aquí descritos, los que son bien conocidos en la técnica, pueden también utilizarse. Todas las publicaciones, las solicitudes de patentes, las patentes y otras referencias mencionadas en este escrito se incorporan por sus referencias y en sus totalidades. En caso de conflicto, la presente especificación, inclusive de sus definiciones, controlará. Además, los materiales, los métodos y los ejemplos son solo ilustrativos y no tienen como propósito ser limitantes.

BREVE DESCRIPCIÓN DE LOS DIBUJOS

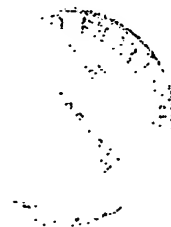
La Figura 1 es un gráfico de barra con la cantidad de sustancias reactivas de ácido tiobarbitúrico (TBARS) en la masa muscular del bacalao a valores específicos de pH. La barra "pH 3 a 7" se mantuvo a un pH 3 por una hora después de agregársele hemolisato, antes de ajustarse a un pH 7 y después almacenarse.



relativamente libre de productos en oxidación, es capaz de formarse en gel y puede ser procesada en alimentos para humanos. Por ejemplo, los métodos de esta invención pueden ser utilizados para producir surimi de un pescado graso como asimismo de un pescado blanco y magro.

I. Aislar la Proteína Comestible Libre de Lípidos

En general, la invención caracteriza un método para aislar la proteína comestible de una masa muscular animal (por ejemplo, la masa muscular de pescado o de ave) al obtener primero una mezcla que contiene una masa muscular animal y agua, la masa muscular animal siendo menor a alrededor de un 15% (por ejemplo, 5% a un 12%, o 10%) en peso de la mezcla. Cualquier solvente acuoso, por ejemplo, el agua, puede utilizarse. Además, la masa muscular se puede lavar con una solución acuosa antes de cualquier manipulación mecánica. La masa muscular puede ser sustancialmente diluida en agua de tal manera que la solución/suspensión de proteína solubilizada producida en pasos sucesivos del método resulta ser de una viscosidad lo suficientemente baja para que los lípidos o el material insoluble pueda ser extraído por la centrifugación. Una viscosidad inferior también puede asistir en la extracción de componentes de la mezcla utilizando otros métodos que no son la centrifugación, tal como se describe en este escrito. La viscosidad de la solución/suspensión de proteína es de preferencia de unos 75 mPa·s o menor (por ejemplo, aproximadamente unos 35 mPa·s o menos). La viscosidad se mide, por ejemplo, con un viscometro Brookfield Modelo LVF (Brookfield Engineering, Stoughton, Massachusetts, EE.UU.) utilizando un huso #3 ó #4 a 60 rpm. La tabla de conversión que provee el fabricante es entonces utilizada para calcular



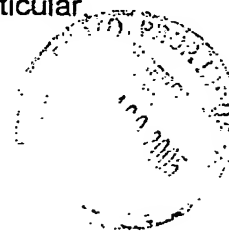
solución acuosa, el pH de la mezcla entonces se aumenta, por ejemplo, a un nivel mayor a aproximadamente de 10,0 (por ejemplo, entre 10,0 a 11,5 o alrededor de 10,5) para que así por lo menos un 50%, por ejemplo, por lo menos 60, 70, 80, 85 ó 90% de la proteína animal en peso se solubilice. De otra manera, una solución acuosa que contenga una base suficiente para aumentar el pH de la mezcla a una cantidad mayor a alrededor de 10,0 (por ejemplo, entre los 10,0 a los 11,5 o a alrededor de 10,5) puede agregarse a la masa muscular animal para lograr el mismo nivel de solubilidad.

La denaturación e hidrólisis de la proteína es una función de la temperatura y el tiempo en la solución, con el aumento de la temperatura y el tiempo en la solución promoviendo la denaturación e hidrólisis de la proteína. Por lo tanto, es deseable reducir la temperatura y el tiempo en que la proteína se encuentre en la solución. Como resultado, los métodos de la invención también pueden llevarse a cabo utilizando un material inicial congelado, por ejemplo, un tejido muscular congelado. La composición acuosa también puede contener componentes tales como los preservantes, los que protegen las proteínas de la degradación. La fuerza iónica de la solución se puede ajustar para evitar la precipitación de la proteína. El tejido muscular también puede ser homogeneizado, por ejemplo, partido en pedazos de aproximadamente 5 mm o menor, para lograr la extracción rápida al ajustar el pH y así además prevenir la denaturación de las proteínas.

Para extraer los lípidos de membrana desde la proteína solubilizada, la mezcla puede ser centrifugada (por ejemplo, aproximadamente a unos 5.000 x g a 10.000 x G, o mayor) para que así los lípidos de membrana cargados se separen de la fase acuosa, la que se reúne, por ejemplo, decantando la fase acuosa. Varias capas pueden formarse después de la centrifugación. Al fondo, los lípidos de membrana cargados y

lípidos indeseables. El porcentaje en peso del sedimento se define como el peso del pellet después de la centrifugación dividida por el total del peso del homogenato. Sobre el pellet se encuentra una capa acuosa que contiene la proteína solubilizada. En la superficie, los lípidos neutros (grasas y aceites), de existir, flotan sobre la capa acuosa. Los lípidos neutros pueden extraerse con una pipeta antes de decantar la fase acuosa. Las capas intervinientes también pueden encontrarse presente, dependiendo de la fuente de la masa muscular. Por ejemplo, un gel de agua atrapada que contiene proteína solubilizada puede formarse entre la capa acuosa y el pellet. Este gel puede mantenerse con la capa acuosa para aumentar el rendimiento de la proteína. Por supuesto, en las aplicaciones industriales, la fase acuosa (y las otras fases, si se desea) pueden retirarse durante la centrifugación utilizando una centrifuga de flujo continuo u otro tipo de maquinaria de escala industrial.

Otros métodos además de la centrifugación pueden utilizarse para separar los lípidos de membrana de la fase acuosa. Por ejemplo, una variedad de aparatos de filtración se encuentran disponibles para el experto en la materia, dependiendo del tamaño y el volumen de material a ser separado. Al no contar con agregados para los lípidos de membrana, un aparato de microfiltración es adecuado para separar las moléculas que cuentan con un peso molecular en el intervalo de 500.000 a 20 millones. Si los lípidos cuentan con agregados, la filtración de las partículas puede ser el método adecuado. Estas unidades de filtración usualmente operan bajo presión en el intervalo de 2 a 350 kPa. Además, las membranas de intercambio catiónico (sc-1) y las membranas de intercambio aniónico (sa-1) son adecuadas para extraer los lípidos de membrana desde la mezcla. Asimismo, varios métodos de filtración pueden utilizarse para trabajar la proteína de la masa muscular de un tamaño en particular.

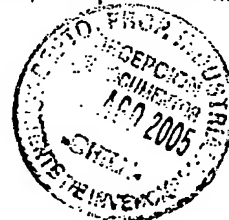


relativamente constante. Un proceso de flujo atravesado, que cuenta con la ventaja de remover queque o masa en el filtro de manera continua, también puede utilizarse. Para recuperar el agua o reducir el contenido de la sal en la mezcla, las membranas de filtración pueden utilizarse con electrodiálisis para expulsar los iones de la mezcla. Para este propósito en particular, una unidad de amontonamiento y empacado ("stackpack") (de Stantech, Inc., Hamburgo, Alemania) puede utilizarse. Esta unidad contiene varios pares de células hechas "sandwich" entre dos compartimentos con electrodos.

La extracción de las membranas también puede facilitarse al someter una mezcla a una presión alta, utilizando, por ejemplo, el aparato MPF 7000 (Mitsubishi Heavy Industries, Ltd.) o un aparato ACB 665 de Alta Presión (Gec, Alsthom, Nantes, Francia). El tratamiento de alta presión acompañado por el tratamiento de temperatura adecuada, cuenta con el beneficio adicional de matar patógenos conocidos, además de la agregación y y la separación de los lípidos de membrana.

Además del uso de la presión alta, un agregado también puede ser colocado en la mezcla para facilitar la extracción de los lípidos de membrana. Los agregados de polímeros adecuados incluyen la carraginata, la algina, la pectina desmetilada, la goma arabiga, el quitosano, la polietileneimina, la espermina y la espermidina. Otros agregados incluyen las sales, tal como la sal de calcio, la sal de magnesio, el sulfato, el fosfato y la poliamina.

El pH de la fase acuosa puede entonces disminuirse para que las proteínas solubilizadas se precipiten. El rendimiento puede llegar a por lo menos un 70% (por ejemplo, por lo menos un 90%) en peso del total de la proteína al comienzo de la mezcla. El rendimiento se define como la masa de proteína precipitada dividida por el total de la masa de la proteína muscular. En una modalidad, el pH disminuyó a



aumentó a más de aproximadamente 5,0 para precipitar la proteína. Este descenso adicional en el pH puede facilitar la precipitación de las proteínas sarcoplásmicas a un pH mayor. Los crioprotectores (por ejemplo, los disacáridos y/o los polialcoholes, tales como el polisorbato) pueden agregarse para precipitar la proteína y así preservar como proteger el producto durante el congelamiento y el almacenamiento.

Cualquier ácido que no contamine indeseablemente el producto final puede utilizarse para reducir el pH de la mezcla centrifugada. Por ejemplo, los ácidos orgánicos (por ejemplo, el ácido málico o el ácido tartárico) o ácidos minerales (por ejemplo, el ácido clorhídrico o ácido sulfúrico) son adecuados. El ácido cítrico que cuenta con un valor pK_a favorable puede proveer capacidad amortiguadora a un pH 3 y un pH 5,5. Los ácidos que cuentan con volatilidad notable y que imparten olores indeseables, tales como el ácido acético o el ácido butírico, son indeseables. Asimismo, cualquiera de las varias bases puede utilizarse para aumentar el pH. Un polifosfato es adecuado, ya que también funciona como un antioxidante y mejora las propiedades funcionales de las proteínas en la masa muscular.

Ya que el control del pH de una mezcla puede a menudo ser difícil, la mezcla puede incluir un amortiguador que mantenga un valor pH ácido a básico. Por ejemplo, un compuesto tal como el citrato, que cuenta con un pK_a en el rango de aproximadamente 5,97, puede agregarse a la mezcla que contenga una proteína solubilizada, si la proteína solubilizada es precipitada a un pH de aproximadamente 6,0 o inferior. En efecto, el citrato puede actuar como un "freno" para garantizar que el pH de la mezcla no se sobrepase en su valor pH meta. Dado un valor de pH, la elección de un amortiguador se encuentra dentro de la capacidad de conocimiento de la técnica de la ciencia de la alimentación. Los amortiguadores adecuados para un pH básico en



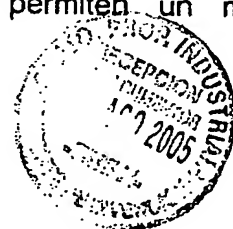
pirofosfato y el malonato. Los amortiguadores adecuados para un pH ácido en el rango de 2,0 a 2,5 incluyen la alanina, el ácido glutámico, el ácido cítrico, el ácido láctico, el ácido fosfórico o el ácido pirúvico.

En vez de reducir el pH de la solución, la precipitación proteínica puede lograrse al agregar polímeros tales como los polisacáridos, los polímeros cargados, los hidrocoloides marinos inclusive los alginatos o las carraginas o similares, por si solos o en combinación con la centrifugación. La concentración de la sal de la fase acuosa también se puede ajustar para facilitar la precipitación.

Además, los diversos lavados, los sobrenadantes y las fracciones de flujo cruzado se pueden volver a reciclar con pasos previos para recuperar aún más proteína utilizando los métodos. Por ejemplo, después de que la proteína solubilizada se ha precipitado, la fracción acuosa puede hacerse ingresar a otro lote de masa muscular animal que espera ser solubilizada.

II. Uso de Proteína Comestible Libre de Lípidos

Los métodos nuevos pueden usarse para procesar, para el consumo humano, los materiales que a la fecha presente no se están utilizando como alimentos para humanos debido a su inestabilidad y a sus cualidades sensoriales indeseables. Pequeñas especies de pescados tales como el arenque, el "Mackerel" (familia *Scombridae*) o caballa, el "menhaden" (*clupeidae*, familia del arenque presente en el Atlántico), el "capelin" (*mallotus villosus*, presente en los mares Articos), las anchovetas o las sardinas son o poco utilizadas o utilizadas para consumos no de humanos. Aproximadamente una mitad del pescado actualmente recaudado en el mundo no se utiliza para el consumo humano. Los nuevos métodos permiten un mejor

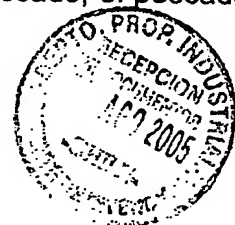


mejorarse en términos de rendimiento utilizando los métodos de la invención. Los métodos de la presente invención resultan en aislados proteicos que son capaces de formar geles, por ejemplo, geles de carne de ave deshuesada mecánicamente, que son más resistentes que los geles hechos de los materiales que no están procesados por los métodos de la presente invención. Además, los geles cuentan con grasa reducida y una mayor capacidad de fijación con el agua cuando se comparan con los geles hechos de materiales no procesados. Además los aislados proteicos producidos por estos métodos de la presente invención pueden utilizarse como un ingrediente funcional para reemplazar las porciones de proteína, por ejemplo, la carne, de varios productos alimenticios, tales como las salchichas o los embutidos.

III. Fuentes de Masa Muscular Animal

El proceso de esta invención puede ser utilizado para procesar piel que se recupera del pescado después de que se han extraído los filetes. Este material usualmente no es utilizado para consumo humano. De manera similar, existe muy poco uso para los esqueletos de las aves después de que las partes se han extraído para su venta al detalle. Los métodos de la presente invención pueden procesar tales partes de aves y pescado para producir una proteína comestible adecuada para el consumo humano. Otras fuentes de la masa muscular poco utilizadas que son de utilidad en los métodos de la invención incluyen el krill Antártico, el que se encuentra disponible en grandes cantidades pero el cual es difícil de convertir en alimento humano debido a su tamaño pequeño.

Fuentes de partida que son representativas y adecuadas de la masa muscular animal para los procesos de esta invención incluyen los filetes de pescado, el pescado



La invención se describirá aún más en los siguientes ejemplos, los que no limitan el ámbito de la invención que se define por las reivindicaciones.

EJEMPLOS

Ejemplo 1. Valorando el pH para una Solubilización Óptima de la Proteína.

Preparación del pescado. Un bacalao del Atlántico de excelente calidad se obtuvo de una planta local procesadora de pescado. La masa muscular del bacalao se recortó bien, se molió en pedazos de 3,171 mm (1/8 de pulgada), se mezcló con nueve partes de agua destilada, desionizada y fría (6° C) por cada parte de masa muscular y se homogeneizó en una máquina Polytron® PCU (de Brinkman Instruments, Westbury, New York, EE.UU.) a una velocidad de 76 por 1 minuto.

Solubilización alcalina. El pH del bacalao homogeneizado fue de 6,85. Se le agregó un molar NaOH a los homogenatos hasta que lograron niveles de pH alcalino específicos en el rango de los 9,04 a los 11,50. Las viscosidades de las soluciones a 4°C - 6°C a los valores de pH específicos fueron medidas con un viscometro Modelo LVF® de Brookfield (Brookfield Engineering, Stoughton, Massachusetts, EE.UU.) utilizando husos del #3 y #4 a 60 rpm. El gráfico provisto por el manufacturero se utilizó para calcular la viscosidad. La mezcla fue entonces centrifugada a 9.300 rpm en un rotor No. 35 (10.000 x g) por 60 minutos utilizando una ultracentrifuga L5-65B® para formar una capa superior de aceite emulsificado, una capa acuosa media que contenía la proteína solubilizada y precipitado de membranas. En algunos casos, cuando se utiliza el pescado blanco magro, la capa de aceite emulsificado puede que no se encuentre presente. La capa acuosa fue reunida mediante la extracción del aceite con

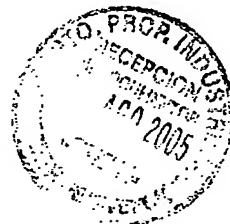


TABLA 1

pH	Viscosidad (mPa·s)	% de solubilidad de proteína	% de peso de sedimento
9,04	373,5	33,37	31,18
9,50	409,0	36,85	40,42
10,00	638,5	78,82	28,22
10,49	59,5	88,90	15,08
10,99	57,4	99,56	13,52
11,50	29,5	>99,9	4,95
6,85	222,5	—	—

La masa proteica se determinó utilizando la reacción Biuret como se describe en Torten y otros, *Journal of Food Science*, 168: 168-174, 1963. El porcentaje de solubilidad de la proteína se define como la masa de proteína en la capa acuosa dividida por la masa de proteína en el homogenato original.

La Tabla 1 indica que más de un 70% en solubilidad de la proteína ocurre a valores de pH sobre 10,0, la viscosidad cae por bajo los 75 mPa·s a valores de pH entre 10,0 y 10,5 y superiores, y que el porcentaje de peso en sedimento cae por bajo el 15% a un pH aproximado de 10,5 o superior. Los datos en la Tabla 1 muestran que la eficiente solubilidad de proteína (>70%) ocurre a valores de pH sobre los aproximadamente 10,5. A medida que la viscosidad cae por bajo los 75 mPa·s cuando el pH se encuentra sobre aproximadamente 10,5, el porcentaje de solubilidad de la proteína aumenta por sobre el 75%. De manera similar, el porcentaje en peso del sedimento disminuye a menos de un 15% cuando el pH sube sobre 10,5. Si la viscosidad se encontrase muy alta, la proteína se co-sedimenta con la membrana y se extrae. Una viscosidad de 75 mPa·s o menor fue usualmente requerida para extraer los lípidos de membrana por medio de la centrifugación, sin extraer una porción sustancial de la proteína junto con ellos. La muestra a un pH 10 se encontró altamente viscosa



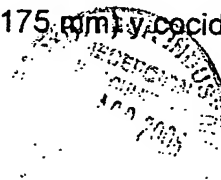
aproximadamente 10,0 se podría utilizar, valores de pH mayores alcanzando y sobre los 10,5 se consideraron de mayor interés comercial.

Ejemplo 2: Producción del Surimi hecho de Bacalao y "Mackerel" (familia Scombridae) o caballa.

El bacalao se preparó como se describe en el Ejemplo 1 anteriormente mencionado. El "Mackerel" o caballa del Atlántico utilizado fue de calidad de la Etapa II como se valoró utilizando el método descrito en Kelleher y otros, *Journal of Food Science*, 57: páginas 1103-1108 y 1119, año 1992. Las mezclas fueron ajustadas a un pH de 10,5 para solubilizar la proteína. Las mezclas fueron entonces centrifugadas y la capa acuosa reunida como se describe en el Ejemplo 1.

HCl uno molar fue agregado a la solución de proteína acuosa hasta que alcanzó un pH de 5,5. La proteína precipitada fue reunida al centrifugarse a 15.000 rpm (34.600 x g) en un rotor No. 19 por 20 minutos en una unidad de ultracentrífuga L5-65B de Beckman®. El sobrenadante fue decantado. Una solución crioprotectora conteniendo un 4% de sacarosa, un 4% de sorbitol y un 1,2% de tripolifosfato de sodio fue agregado al pellet de proteína. La mezcla se formó en surimi picándola por 30 segundos utilizando un picador modelo Oskar® (Sunbeam-Oster, de Hattiesburg, Massachusetts, EE.UU.) en un refrigerador tipo pieza cámara refrigerada. El surimi se empaquetó en bolsas de polietileno Whirl-pak7® y se congeló a -40° C por lo menos por 12 horas.

El surimi congelado fue templado en una unidad de cámara refrigerada (4°C) por 30 minutos antes de picar por dos minutos en un picador marca Oskar®. NaCl le fue agregado en un 3% (por peso) de surimi durante el picado. La pasta picada fue embutida en tubos de acero inoxidable (19 mm en diámetro x 175 mm) y cocido a 90°C



desplazamiento fueron determinados utilizando una sonda de acero inoxidable de 5mm adherida a un Instrumento Universal de Prueba de Materiales Modelo 1000 de Instron® (de Instron Corporation, Canton, Massachusetts, EE.UU.) equipado con una célula de carga de 5 kilos y a una velocidad de cabezal en cruce de 100 mm/minuto. Los valores fueron grabados y calculados como se describe en Lanier, "Medidas de la Composición del Surimi y las Propiedades Funcionales" en Surimi Technology (Lanier y otros, ediciones), páginas 122-163, Marcel Dekker, Inc., Nueva York, EE.UU., 1992.

TABLA 2

Fuente de masa muscular	Presión/Tensión	Estrés (kPa)
Bacalao	2,21 ± 0,10	128,13 ± 7,33
Mackerel (o caballa del Atlántico)	1.95 ± 0.08	91.2 ± 0.00

Para el bacalao, los valores representan el promedio y la desviación estándar de tres tubos cocidos de una muestra de gel. Para el "Mackerel" o caballa del Atlántico, los valores representan el promedio y el estándar de desviación de dos tubos cocidos de una muestra del gel.

Todos los geles eran de buena calidad. En general, los valores de presión y tensión (el componente elástico) mayores que 1,9 a 2,0 se clasifican como geles de grado (calificación) A. Los valores de estrés (componente de dureza) que se encontró en todos los geles fue excelente, con la mayoría de los geles disponibles en el comercio siendo aproximadamente de por lo menos unos 30-35 kPa.



Bait, Gloucester, Massachusetts, EE.UU. y transportado en hielo a la Estación Marina de la Universidad de Massachusetts (aproximadamente 15 minutos de viaje). A su llegada al laboratorio, el pescado fue calificado visualmente y dividido en cuatro tipos de calificación: En rigor, etapa I, II y III (Kelleher y otros, *Journal of Food Science*, 57: páginas 1103-1108 y 1119, de 1992). El envejecimiento post mortem generalmente fluctuó entre las 6-36 horas. Masa muscular blanca fue extraída manualmente y pasada por una lámina de 3mm. utilizando un moedor de cocina (Kitchen Aid, Inc., de Saint Joseph, Missouri, EE.UU.).

Aislamiento de la Proteína. Masa muscular molida (120-300 gramos) fue homogeneizada por un minuto (velocidad 50, 120 voltios) con 9 volúmenes de agua destilada y helada utilizando un Politrón de Kinematica GmbH (de Westbury, Nueva York, EE.UU.) conectado a un autotransformador variable (de Dayton, Ohio, EE.UU.). Las proteínas en la masa homogénea fueron solubilizadas por un agregado gotario de 2N NaOH hasta que alcanzó un pH de 10,8. La suspensión de proteína fue centrifugada dentro de 15 minutos a 18.000 x g (por 20 minutos) el que llevó a cuatro fases: una "capa de emulsión" flotante, un sobrenadante claro, un sedimento de tipo gel blando, y un sedimento de fondo algo más firme. El sobrenadante se separó de la "capa de emulsión" mediante la filtración de estas dos fases por una tela de filtración doble. Las proteínas solubles fueron precipitadas para ajustar el pH a valores entre un pH de 4,8 a 7, por ejemplo, 5,5, utilizando 2N HCl. Las proteínas precipitadas fueron reunidas por una segunda centrifugación a 10.000 x g.

Manufactura del surimi. El agua excedente en los precipitados de proteína producidos alcalinamente fueron estrujados manualmente o extraídos por la centrifugación (20 minutos, 18.000 x g). Esto redujo el contenido de humedad (Mc) de

final fue de $73,2 \pm 0,5\%$. El surimi fue congelado en bolsas plásticas a 80°C .

Manufactura de los Geles de surimi. Los geles fueron preparadas como se describe por Kelleher & Hultin, (Kelleher & Hultin, Fisolatos de proteína de masa muscular de Ave funcional preparada utilizando resistencia iónica baja y la solubilización/precipitación ácida, en *Meat Science in the New Millennium*, Procedimientos de la 53ª. conferencia anual de la carne reciproca, Universidad del Estado de Ohio, Junio 18-21, páginas 76-81 (año 2000), con la excepción de que el pH del surimi fue ajustado a 7,1–7,2 utilizando un 10% de NaOH o un 10% de HCl después de picar en un 2% NaCl. El surimi fue empaquetado o en caseínas de celulosa (The Sausage Maker Inc., de Buffalo, Nueva York, EE.UU.) o en tubos de metal de 19 mm., dependiendo del tipo de las medidas de gelatina a llevarse a cabo.

Calidad de los Geles. La elasticidad y el estrés (la falla estructural) fueron analizados usando la técnica de torsión de Wu y otros, *Journal to Tex. Studies*, 16: páginas 53-74 (año 1985) o con un gelómetro modelo AP-83 de Reho Tex (Sun Sciences Co., Seattle, Washington, EE.UU.). Este último midió las deformación (mm) y la fuerza tope (g) requerida para penetrar secciones de 2,5 cm de los geles. Los geles también fueron sometidos a una prueba de doblez descrita por Dudo y otros (1973) al doblar una rebanada de 3mm del gel una o dos veces. Los valores de color Hunter, "L", "a" y "b" fueron medidos en los geles de acuerdo con Kelleher y Hultin. Anteriormente mencionado.

La Tabla 3 provee datos de una preparación de surimi asistida con alcalina y geles de surimi utilizando masa muscular magra de arenque fresco y masa muscular magra de arenque de pescado envejecido por 6 días sobre hielo, el que se procesó de la misma manera. La mezcla crioprotectora consistió de un 4% de sorbitol, un 4% de

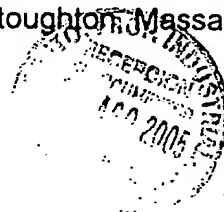
Inc., de Seattle, Washington, EE.UU.). Los valores dentro de la misma línea que portaban diferentes números son notablemente diferentes ($p \leq 0,05$). Los datos indican que un surimi de buena calidad y geles de surimi pueden ser preparadas tanto arenque fresco como envejecido utilizando los métodos de la presente invención.

TABLA 3

Materia Cruda / Características del surimi	Arenque fresco pH 10,8	Arenque envejecido pH 10,8
Contenido de humedad (Mc) en masa muscular (%)	79,6	80,6
Contenido de lípidos en masa muscular (%dw)	11,1	8,8
TBARS de Masa Muscular ($\mu\text{mol TBA/kg}$)	5	28
Mc en precipitado de proteína (%)	87,3	87,7
Mc en precipitado de proteína desaguado (%)	74,4	74,5
Mc en surimi con crioprotectores	72,5	73,1
pH en surimi con crioprotectores	6,87	6,42
pH antes de la coagulación	7,15	7,11
Mc en gel de surimi final (%)	70,7	69,9
Características del Gel		
Prueba de doblez	5	3
Fuerza de quiebre (g)	871 ± 62	464 ± 11
Deformación (mm)	$9,2 \pm 0,7$	$6,2 \pm 0,3$

dw = peso seco

La Tabla 4 provee datos de una preparación de surimi asistida con alcalina y geles de surimi de masa muscular magra de arenque fresco. La mezcla crioprotectora consistió de un 4% de sorbitol, un 4% de sacarosa y un 0,3% de tripolifosfato de sodio. Los geles contenían un 2% de NaCl y fueron formados a 90° C por 30 minutos. El estrés y el esfuerzo fueron medidos utilizando una técnica de torsión (Wu y otros, Journal of Tex. Studies 16, páginas 53-64 (año 1985)) utilizando un viscómetro Digital Brookfield (Modelo DV-II, de Brookfield Engineering, Inc., de Stoughton, Massachusetts,



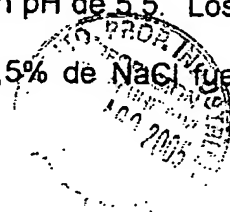
(n=5). La blancura fue calculada de acuerdo con la siguiente formula:
 $100 - ((100 - L)^2 + a^2 + b^2)^{0.5}$ (Lanier, "Medidas de la Composición de Surimi y las Propiedades Funcionales" encontrada en Surimi Technology (Lanier y otros, ediciones), páginas 123-163, Marcel Dekker, Inc., de Nueva York, EE.UU., año 1992) utilizando valores promedios de L, a y b (Ver Kellerher y Hultin (200), *anteriormente mencionado*).

TABLA 4

Materia Prima / características del surimi	pH 10,8
Mc en masa muscular (%)	80
Contenido de lípidos en masa muscular (%dw)	11,3
Mc en precipitado de proteína (%)	87,5
Mc en precipitado de masa muscular desaguada (%)	72,8
Mc de surimi con crioprotectores (%)	73,6
pH de surimi con crioprotectores	6,0
pH antes de coagulación	7,1
Características del Gel	
Mc en gel de surimi final (%)	74,1
Prueba de doblez	5
Estrés (kpa)	56,1 ± 2,4
Esfuerzo	1,6 ± 0,1
G	35,4 ± 2,1
L	66,5 ± 0,3
a	-2,4 ± 0,4
b	8,1 ± 0,9
Blancura	65,5

Ejemplo 4: Producción de los Aislados de Proteína de Carne de Ave Deshuesada y Separada Mecánicamente (MSDC)

Un aislado de proteína fue preparado de MSDC por el proceso alcalino similar al que se describe en el Ejemplo 3. La proteína aislada fue reunida a un pH de 5.5. Los aislados de proteína fueron entonces divididos en dos lotes y un 2,5% de NaCl fue



enfriado en un baño de hielo y almacenado de la noche a la mañana en un refrigerador antes de la prueba. Los geles fueron también preparados directamente del MSDC como un control.

Las características de coagulación de los aislados de proteína (preparados por el método de la presente invención) y el MSDC original fueron comparadas. Los resultados se proveen en la Tabla 5.

TABLA 5

	Aislado de Proteína pH 6,0	Aislado de Proteína pH 7,0	MSDC
% de lípidos (base seca)	—	—	52,2
% de lípidos (base seca)	9,1	9,5	41,7
pH	6,18	7,03	6,66
% agua	78	79	64
Valor L	54	52	48
Prueba de torsión			
Estrés (kPa)	78	—	44
Esfuerzo	1,45	—	1,45
Perforación, resistencia del gel, g cm			
Menor calor ^a	677	463	395
Mayor calor ^a	842	517	255

^a Expuesto a temperatura de cocimiento por un periodo menor o mayor debido a la ubicación de la muestra.

Los aislados de proteína preparados por el método de la presente invención mostraron mejorías en el aglutinamiento con agua y en la resistencia del gel. La porción magra del aislado de la proteína preparada a un pH 6 tenía un 28% más de agua (y era un 21,1% mayor en peso) que la porción magra del MSDC. Los aislados de proteína también contaban con un contenido de lípidos menor que el de MSDC.



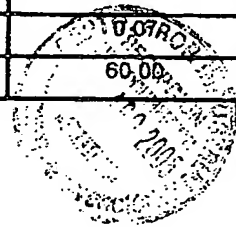
presente invención como un ingrediente en los comestibles fue investigado. Específicamente, los aislados de proteína de extracción alcalina fueron substituidos por masa muscular de pechuga de pollo en salchichas de masa muscular de pechuga de pollo. Además, el efecto de varios métodos de picado sobre la calidad del gel fue investigado.

Preparación de Aislados de Proteína. 4.800 ml de agua fue agregado a 600g de MSCD (1:8 w/v). La mezcla fue homogeneizada con un Politron por 2 minutos y la grasa en la superficie de la mezcla fue extraída. El pH fue entonces ajustado a 10,5. La mezcla fue centrifugada a 10.000 x g por 30 minutos. La grasa neutra en la superficie de la mezcla y la fracción insoluble en el sedimento (que contiene mayormente colágeno y residuo de hueso) fue extraída. El sobrenadante fue pasado por una gasa o tela de capa doble para retener los glóbulos de grasa y el pH fue ajustado a 5,5 para precipitar la proteína. La mezcla fue entonces centrifugada dos veces a 10.000 x g por 30 minutos. El sedimento fue centrifugado nuevamente a la misma velocidad por 30 minutos para reducir aún más el contenido de humedad.

Preparación para Embutidos/salchichas. Salchichas o embutidos que contenían un 0%, un 25% y un 50% de aislados de proteína (PI) fueron preparados de acuerdo con las formulas que se muestran en la Tabla 6.

TABLA 6

Ingredientes	Control 100% de CBM	25% Sustitución PI	50% Sustitución PI
CBM	124,13	93,09	62,06
PI	0,00	31,03	62,06
Hielo	12,41	12,41	12,41
Sal	2,89	2,89	2,89
STP	0,49	0,49	0,49
Nitrato Na	0,02	0,02	0,02
Eritobato	0,07	0,07	0,07
Grasa (chancho, 30%)	60,00	60,00	60,00



fue picada por 1 minuto, seguido por la adición de grasa y un picado adicional (1,5 minutos); el método (c): una mezcla conteniendo todos los ingredientes excepto la grasa y el aislado de proteína fue picado por 1 minuto, seguido por el agregado de grasa y picado adicional (0,5 minutos), seguido por el agregado del aislado de proteína y un picado adicional (1 minuto). Una mezcla a mano fue llevada a cabo por cada 30 segundos de picado, a una temperatura menor a los 18°C. Los resultados se muestran en las tablas que se detallan a continuación.

TABLA 7: Porcentaje de pérdida de agua después de cocinar y enfriar

Composición de la Proteína	Método de Picado	% Total de Pérdida de Grasa	% Total de Pérdida de Agua
100% CBM	a	No Observado	3,8 ± 0,6
75% CBM + 25% PI	a	No Observado	4,5 ± 0,7
75% CBM + 25% PI	b	No Observado	4,3 ± 0,4
75% CBM + 25% PI	c	No Observado	4,5 ± 0,3
50% CBM + 50% PI	a	No Observado	7,5 ± 0,6

TABLA 8: Valores pH del producto de gel

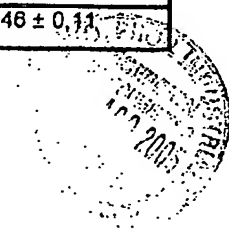
Composición de la Proteína	pH
100% CBM	6,27
75% CBM + 25% PI	6,21
75% CBM + 25% PI	6,19
75% CBM + 25% PI	6,20
50% CBM + 50% PI	6,18

CBM = masa muscular de pechuga de pollo.

TABLA 9: Prueba de Torsión

Composición de la Proteína	Estrés	Esfuerzo
100% CBM	81,1 ± 4,9	1,68 ± 0,02
75% CBM + 25% PI	80,8 ± 3,8	1,66 ± 0,06
75% CBM + 25% PI	97,5 ± 10,7	1,78 ± 1,72
75% CBM + 25% PI	88,9 ± 8,9	1,72 ± 0,11
50% CBM + 50% PI	76,22 ± 9,9	1,46 ± 0,11

CBM = masa muscular de pechuga de pollo



75% CBM + 25% PI	73,22 ± 0,48	7,47 ± 0,19	10,48 ± 0,05
75% CBM + 25% PI	73,72 ± 0,35	7,43 ± 0,17	10,59 ± 0,17
75% CBM + 25% PI	71,64 ± 0,88	8,28 ± 0,18	10,61 ± 0,18
50% CBM + 50% PI	70,03 ± 0,54	7,29 ± 0,14	10,16 ± 0,10

CBM = masa muscular de pechuga de pollo

Se observó que por lo menos un 25% de la masa muscular de pechuga de pollo (CBM) puede ser sustituida por aislados de proteína sin una pérdida notable en las características funcionales, con la excepción del color.

Ejemplo 6: Tratamiento Alcalino de la Masa Muscular Animal Previene la Oxidación mediante la Inactivación de la Deoxihemoglobina

Para determinar si la solubilización alcalina de la proteína de la masa muscular animal llevó a las ventajas independientemente de la capacidad de extracción de los lípidos de membrana, se preparó masa muscular de bacalao lavado como se describe en Richards y otros, *Journal of Agricultural Food Chemistry*, 48: páginas 3141-3147, año 2000. El hemolisato de trucha fue entonces agregado a las muestras de bacalao lavado para lograr una concentración en hemoglobina de un 6 $\mu\text{mol/kg}$. Las muestras fueron entonces almacenadas a 5°C por unas 15 horas después de que se estableciera un valor de pH estable para la muestra. Al término de la incubación, sustancias reactivas en ácido tiobarbitúrico (TBARS), un sustituto para productos que sufren oxidación, fueron cuantificados como se describe en Richards y otros, anteriormente mencionado. Los resultados se resumen en la Figura 1 e indican que la oxidación dependiente en hemoglobina fue reducida o eliminada a valores de pH de alrededor de 7 o más. A valores de pH inferior a 7, se observó una oxidación notable. En general, un valor TBAR mayor a unos 20 $\mu\text{mol/kg}$ son indicativos de una fuerte oxidación. Como se

resultados sugieren que el tratamiento alcalino de la masa muscular animal, especialmente masa muscular animal roja, previene que la deoxihemoglobina reaccione y oxide las moléculas biológicas en una mezcla de masa muscular animal, explicando así en parte los beneficios de la invención que aquí se describe.

Ejemplo 7: El Tratamiento Alcalino de la Masa Muscular Animal Mejora el Rendimiento de la Proteína que se Puede Formar en Gel y que es Comestible en por lo Menos Dos Mecanismos.

Para entender mejor el mecanismo(s) para los rendimientos altos en proteína y de geles de buena calidad que aquí se describen, una masa muscular de arenque fue preparada en ácido clorhídrico (pH 2,6) como se describe en Kellerher y otros, "Aislados de masa muscular funcional de pollo preparados utilizando una resistencia iónica y una solubilización/precipitación", 53^a. Conferencia Anual de Carne Recíproca, Junio 18-21, 2000, *American Meat Science Association*, Savoy, Il, páginas 76-81. El mismo procedimiento fue utilizado para producir aislados de proteína en su base (pH 10,7), excepto que en este caso, la solubilización y la incubación fue hecha a un pH alcalino utilizando hidróxido de sodio. Las muestras fueron incubadas en hielo por aproximadamente unos 165 minutos y después cargadas sobre un gel dodecilsulfato-poliacrilamida de sodio bajo condiciones de reducción estándar. La electroforesis de la gelatina y el manchado con Azul Coomassie permitió la visualización de la banda de proteína de la cadena pesada, de miosina en alrededor de 205 kDa.

De manera asombrosa la masa muscular del arenque incubada a un pH de 2,6 demostró un quebrantamiento considerable de la cadena pesada de la miosina mientras que ninguna pérdida de la cadena pesada de la miosina fue detectada en la masa

En un segundo experimento, proteína de masa muscular de "pollock" o pescada de Alaska (*Pollachius virens*, familia del bacalao) fue preparada, solubilizada bajo condiciones diferentes pH y precipitada como se describe en el Ejemplo 1. El porcentaje en peso de la proteína recuperada después de la precipitación fue de un 22,7% a un pH neutro; 66,1% a un pH 11,0 y 58,5% a un pH de 3,0. Se hizo notar que la proteína recuperada de la muestra con un pH de 11,0 logró formarse en un gel. Este resultado, en parte, llevó a la siguiente hipótesis.

El pescado "Gadoid", tal como el "pollock" o pescada de Alaska, el "hake" (*genus Merluccius*, de la familia del bacalao) y la pescadilla azul (*Gadus*, o *Merlangius merlangus*), son pescados alimenticios importantes y son utilizados para producir el surimi. Cuando las especies de pescado "Gadoid" se congelan, una enzima en la carne, la óxido de trimetilamina desmetilasa, rompe el óxido de trimetilamina a dimetilamina y formaldehído en la carne. El formaldehído producido a su vez denatura la masa muscular proteica, volviéndola así insoluble, aún bajo condiciones alcalinas. Se cree que el tratamiento alcalino descrito puede solubilizar algo de las proteínas modificadas debido a su carga negativa alta sobre las proteínas a este pH. También es posible que el tratamiento alcalino pueda revertir por lo menos en parte la reacción de las proteínas del pescado con el formaldehído, volviéndolo así soluble la proteína del pescado.

Los resultados en este ejemplo sugieren que las ventajas de la presente invención pueden operar a través de más de un mecanismo.

200,000

intención el ilustrar y no limitar el ámbito de la invención, la que se define por el ámbito de las reivindicaciones. Otros aspectos, ventajas y modificaciones se encuentran dentro del ámbito de las reivindicaciones que siguen.



CARACTERIZADO porque comprende los siguientes pasos:

- a) Obtener una mezcla que comprende músculo animal y agua;
- b) Aumentar el pH de la mezcla a un nivel suficiente para solubilizar por lo menos una porción de la proteína animal insoluble en la mezcla;
- c) Extraer por lo menos alrededor de 50% en peso del total de los lípidos de membranas desde la mezcla;
- d) Precipitar la proteína solubilizada desde la mezcla de proteína muscular animal; y
- e) Reunir la proteína precipitada, para así aislar la proteína comestible de la masa muscular animal.

2. Un método para aislar proteína comestible desde una masa muscular animal,

CARACTERIZADO porque comprende los siguientes pasos:

- a) Obtener una mezcla que comprende masa muscular animal y agua;
- b) Aumentar el pH de la mezcla a un nivel suficiente para solubilizar por lo menos una porción de la proteína animal insoluble en la mezcla de proteína muscular animal;
- c) Precipitar la proteína solubilizada de la mezcla mezcla de proteína muscular animal; y
- d) Reunir la proteína precipitada, para así aislar la proteína comestible de la masa muscular animal, en donde la temperatura de la mezcla se mantiene a unos 15° C o menos en cada paso del método y la proteína precipitada reunida provee un rendimiento de por lo menos

3. El método según la reivindicación 1 ó 2, CARACTERIZADO porque la proteína precipitada y reunida es capaz de formar un gel comestible.
4. El método según la reivindicación 1 ó 2, CARACTERIZADO porque además comprende formar un gel comestible de la proteína precipitada reunida.
5. El método según la reivindicación 1, CARACTERIZADO porque la masa muscular animal está compuesta de alrededor de 15% o menos en peso de la mezcla antes de aumentar el pH de la mezcla.
6. El método según la reivindicación 1, CARACTERIZADO porque la masa muscular animal está compuesta de alrededor de 10% o menos en peso de la mezcla antes de aumentar el pH de la mezcla.
7. El método según la reivindicación 2, CARACTERIZADO porque la masa muscular animal está compuesta de alrededor de 50% o menos en peso de la mezcla antes de aumentar el pH de la mezcla.
8. El método según la reivindicación 2, CARACTERIZADO porque la masa muscular animal está compuesta de un aproximado 30% o menos en peso de la mezcla antes de aumentar el pH de la mezcla.
9. El método según la reivindicación 1 ó 2, CARACTERIZADO porque el pH de la mezcla se aumenta a un valor aproximado 10,0 o superior.



11. El método según la reivindicación 1 ó 2, CARACTERIZADO porque el pH de la mezcla se aumenta al agregarle polifostato a la mezcla.
12. El método según la reivindicación 1, CARACTERIZADO porque por lo menos alrededor de 70% en peso del total de los lípidos de membrana se extraen de la mezcla.
13. El método según la reivindicación 1, CARACTERIZADO porque por lo menos alrededor de 90% en peso del total de los lípidos de membrana se extraen de la mezcla.
14. El método según la reivindicación 1, CARACTERIZADO porque los lípidos de membranas se extraen de la mezcla por centrifugación.
15. El método según la reivindicación 14, CARACTERIZADO porque la mezcla se centrifuga a alrededor de 5.000 x g o más.
16. El método según la reivindicación 14, CARACTERIZADO porque la mezcla se centrifuga a alrededor de 7.000 x g o más.
17. El método según la reivindicación 14, CARACTERIZADO porque la mezcla se centrifuga a alrededor de 10.000 x g o más.

19. El método según la reivindicación 1, CARACTERIZADO porque los lípidos de membrana se extraen al agregar un agregado a la mezcla.
20. El método según la reivindicación 19, CARACTERIZADO porque el agregado es un polímero.
21. El método según la reivindicación 19, CARACTERIZADO porque el agregado es seleccionado del grupo que consiste en carragenano, algina, pectina desmetilada, goma arábica y quitosano.
22. El método según la reivindicación 19, CARACTERIZADO porque el agregado es seleccionado del grupo que consiste en polietileneimina, espermina y espermidina.
23. El método según la reivindicación 19, CARACTERIZADO porque el agregado se selecciona de un grupo que consiste de carraginina, algina, pectina desmetilada, goma arábica, quitosano, polietileneimina, espermina, y espermidina.
24. El método según la reivindicación 19, CARACTERIZADO porque el agregado es una sal.
25. El método según la reivindicación 24, CARACTERIZADO porque la sal se selecciona de un grupo que consiste de una sal de calcio, una sal de magnesio, un sulfato, un fosfato y una poliamina.



27. El método según la reivindicación 26, CARACTERIZADO porque el pH de la mezcla se reduce a alrededor de 5,5 o menos.
28. El método según la reivindicación 26, CARACTERIZADO porque el pH de la mezcla se reduce a alrededor de 4,0 o inferior, para después aumentarse a alrededor de 5,0 o más.
29. El método según la reivindicación 26, CARACTERIZADO porque además comprende agregar un amortiguador a la mezcla antes de la precipitación de la proteína solubilizada.
30. El método según la reivindicación 29, CARACTERIZADO porque el amortiguador se selecciona de un grupo que consiste de histidina, succinato, citrato, pirofosfato, malonato, alanina, ácido glutámico, ácido cítrico, ácido láctico, ácido fosfórico y ácido pirúvico.
31. El método según la reivindicación 1 ó 2, CARACTERIZADO porque la proteína precipitada se reúne por centrifugación.
32. El método según la reivindicación 1, CARACTERIZADO porque la proteína solubilizada se precipita al agregar un agregado a la mezcla después de extraer los lípidos de membrana.



34. El método según la reivindicación 1, CARACTERIZADO porque la mezcla cuenta con un amortiguador antes de aumentar el pH de la mezcla.
35. El método según la reivindicación 34, CARACTERIZADO porque el amortiguador se selecciona de un grupo que esta compuesto de la glicina, la arginina, la asparagina, la cisteína, carnosina, la taurina, el pirofosfato y el ortofosfato.
36. El método según la reivindicación 1, CARACTERIZADO porque la mezcla está compuesta de un quelante de hierro.
37. El método según la reivindicación 36, CARACTERIZADO porque el quelante de hierro se selecciona de un grupo que está compuesto de ácido etilenodiaminatetraacético, ácido dietilenotriaminopentaacídico, carnosina, anserina, ácido úrico, ácido cítrico, polifosfato, ferritina y transferrina.
38. El método según la reivindicación 1 ó 2, CARACTERIZADO porque además comprende lavar la masa muscular animal con una solución acuosa antes de aumentar el pH de la mezcla.
39. El método según la reivindicación 1 ó 2, CARACTERIZADO porque además comprende extraer la materia insoluble de la mezcla antes de precipitar la proteína solubilizada.



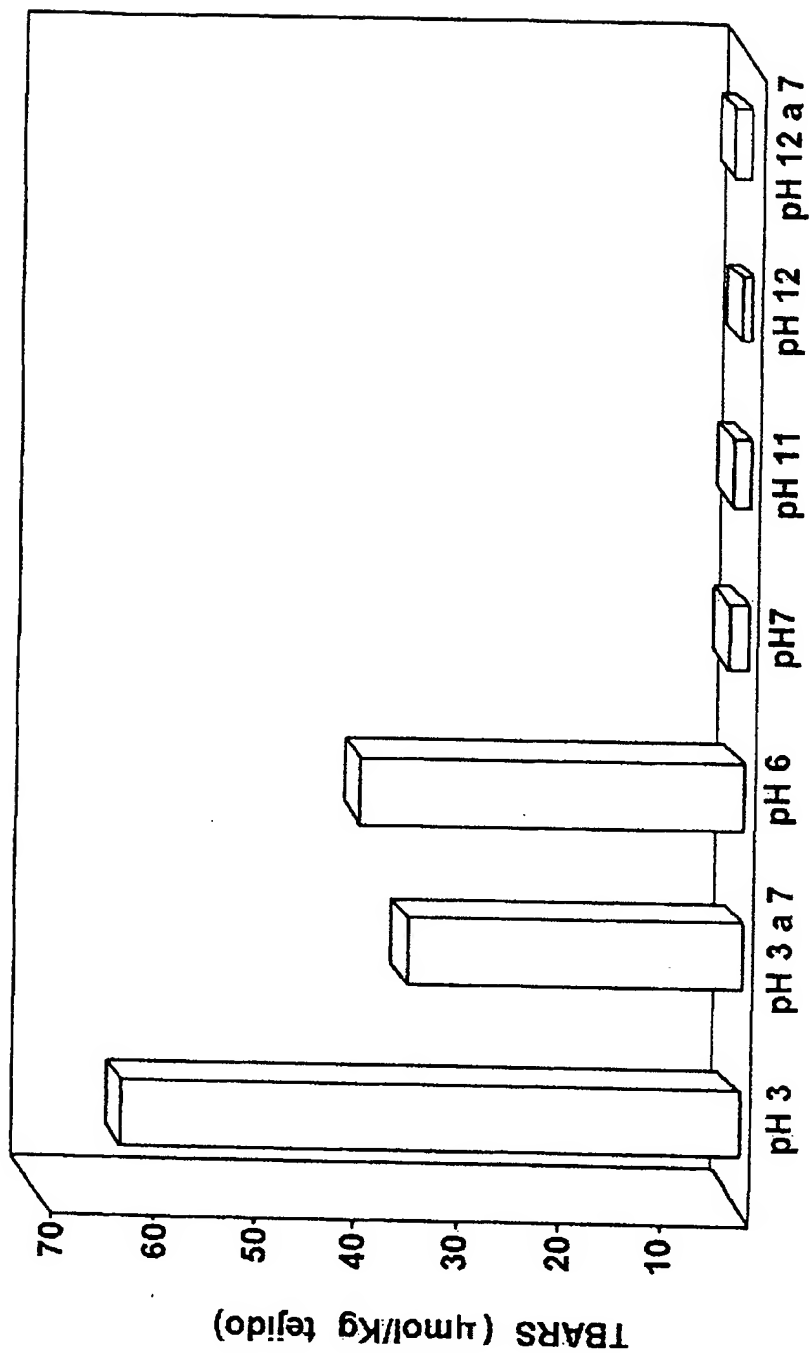
41. El método según la reivindicación 2, CARACTERIZADO porque además comprende extraer los lípidos de membrana desde la mezcla después de aumentar el pH de la mezcla.
42. El método según la reivindicación 41, CARACTERIZADO porque por lo menos alrededor de 50% en peso del total de los lípidos de membrana se extrae desde la mezcla.
43. El método según la reivindicación 1 ó 2, CARACTERIZADO porque la masa muscular animal es masa muscular de un pescado.
44. El método según la reivindicación 1 ó 2, CARACTERIZADO porque la masa muscular animal es masa muscular de pollo.
45. Un método para aislar proteína comestible de una masa muscular animal, CARACTERIZADO porque comprende las siguientes etapas:
- a) Obtener masa muscular animal;
 - b) Agregar una solución acuosa a la masa muscular animal para formar una mezcla, en donde el pH de la solución acuosa se encuentra a un pH lo suficientemente alcalino para solubilizar por lo menos una porción de la proteína de la masa muscular animal en la mezcla de la masa muscular animal;

animal ; y

- e) Reunir la proteína precipitada, para así aislar la proteína comestible de la masa muscular animal.

46. Un método para aislar proteína comestible de una masa muscular animal, CARACTERIZADO porque comprende las siguientes etapas:

- a) Obtener masa muscular animal;
- b) Agregar una solución acuosa a la masa muscular animal para formar una mezcla, en donde el pH de la solución acuosa se encuentra a un pH lo suficientemente alcalino para solubilizar por lo menos una porción de la proteína de la masa muscular animal en la mezcla de la masa muscular animal;
- c) Precipitar la proteína solubilizada de la mezcla proteica de masa muscular animal; y
- d) Reunir la proteína precipitada, para así aislar la proteína comestible de la masa muscular animal, en donde la temperatura de la mezcla se mantiene a unos 15° C o inferior en cada paso del método, y la proteína precipitada y reunida provee un rendimiento de por lo menos un aproximado 70% en peso del total de la proteína de la masa muscular animal en la mezcla antes de aumentar el pH.



Valor de pH del sistema cod

Fig. 1